

中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE  
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS  
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無訛，

其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this office of the application as originally filed which is identified hereunder:

申請日：西元 2002 年 09 月 24 日  
Application Date

申請案號：091121934  
Application No.

申請人：國立成功大學  
Applicant(s)

局長

Director General

蔡練生

發文日期：西元 2003 年 7 月 10 日  
Issue Date

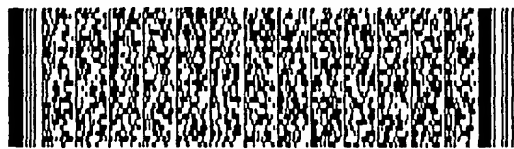
發文字號：09220695790  
Serial No.

申請日期：	案號：
類別：	

(以上各欄由本局填註)

## 發明專利說明書

一、 發明名稱	中 文	具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗及其合成方法
	英 文	
二、 發明人	姓 名 (中文)	1. 賴明德 2. 林季千
	姓 名 (英文)	1. Ming-Derg Lai 2. Chi-Chien Lin
	國 籍	1. 中華民國 2. 中華民國
	住、居所	1. 台南市大學路一號國立成功大學醫學院生化研究所 2. 台南市大學路一號國立成功大學醫學院生化研究所
三、 申請人	姓 名 (名稱) (中文)	1. 國立成功大學
	姓 名 (名稱) (英文)	1.
	國 籍	1. 中華民國
	住、居所 (事務所)	1. 台南市大學路一號
	代表人 姓 名 (中文)	1. 高強
	代表人 姓 名 (英文)	1.



四、中文發明摘要 (發明之名稱：具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗及其合成方法)

本發明係關於一DNA疫苗及其合成方法，其係利用DNA重組技術於一載體上共同構築一段腫瘤相關基因與一段細胞激素基因，前述DNA疫苗之效用在於可共同表現前述之腫瘤相關抗原與細胞激素以達到增強免疫反應及達到抑制或減緩腫瘤細胞生長之效果。

英文發明摘要 (發明之名稱：)



本案已向

國(地區)申請專利

申請日期

案號

主張優先權

無

有關微生物已寄存於

寄存日期

寄存號碼

無

## 五、發明說明 (1)

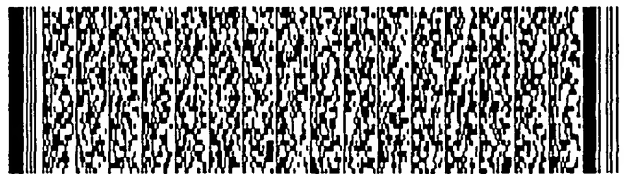
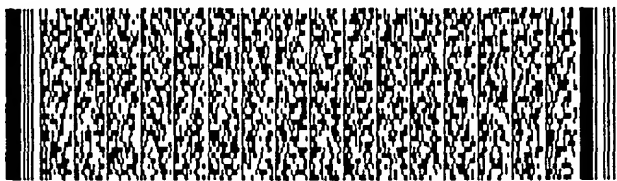
### 【發明之技術領域】

本發明係關於一種DNA疫苗及其合成方法，其係利用DNA重組技術將一段腫瘤相關基因與一段細胞激素基因共同構築於一個載體(vector)上，以製成一同時具有一段腫瘤相關基因與一段細胞激素(cytokine)基因之DNA之疫苗。

### 【發明背景】

近年來，癌症的免疫療法逐漸受到重視，特別是隨著分子生物學的發展及生物技術的進步，癌症疫苗之開發有很大的突破，目前癌症疫苗之種類至少包含DNA疫苗、樹突細胞(dendritic cells)疫苗、基因修飾之腫瘤疫苗(tumor vaccine)等，不同於一般疫苗之主要功效在於預防疾病，癌症疫苗之目的在於治療癌症，更具體而言，即增強體內對腫瘤細胞之免疫力使免疫系統得以辨識並消除腫瘤細胞。而其中DNA疫苗為將編碼某種腫瘤相關抗原之基因(例如：致癌基因 neu、met 或 ras)直接導入宿主細胞內，藉由宿主細胞內之轉錄、轉譯機制表現該腫瘤相關抗原，以誘導宿主體內之免疫反應對抗該腫瘤相關抗原而達到抑制或減緩腫瘤細胞生長之療效。

以致癌基因 neu (又稱 Her-2 或 c-erbB-2) 為例，過去的研究發現在部份癌症患者之腫瘤組織中，如肺癌、乳癌、卵巢癌及膀胱癌等，其致癌基因 neu 具有過量表現之現象，致癌基因 neu 編碼 (encode) 一跨膜醣蛋白，此蛋白為一生長因子受體可接受訊息而加速細胞之生長與分



## 五、發明說明 (2)

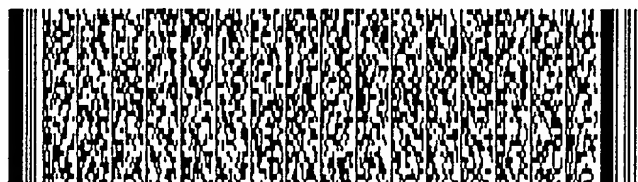
裂，由於neu過量表現之情形與腫瘤細胞之繁殖能力具有正相關性，故可視為一腫瘤相關抗原；此外，neu基因過量表現尚與藥物治療之抗藥性有關且具有此現象之患者預後多不理想。

neu基因在某些癌症過量表現之情形，正好可以用來設計以其為標的之癌症疫苗，例如：攜帶neu基因之DNA疫苗。配合使用neu基因之DNA疫苗與特定細胞激素之腫瘤疫苗，例如：介白素-2 (Interleukin-2, IL-2)，介白素-4 (Interleukin-4, IL-4) 及GM-CSF (granulocyte macrophage colony-stimulating factor)，已於小鼠體內證實的確可達到抑制腫瘤細胞生長之功效，然而其缺點在於腫瘤疫苗之製備需讓腫瘤細胞於體外長期培養和篩選，不僅培養不易且腫瘤細胞易於培養過程中發生突變造成表面抗原丟失，又於篩選過程中可能造成腫瘤細胞群之異質性降低，導致腫瘤疫苗之保護範圍縮小之缺陷，加上製作成本過高，故目前於臨床應用尚無法普及。

### 【發明概述】

有鑑於習知技術之缺失，本發明係在於提供一合成省時簡易並且成本較低之DNA疫苗及其合成方法。前述之DNA疫苗，其係於一含適當啟動子或轉譯調控序列之載體上構築至少包括：一段腫瘤相關基因；及一段細胞激素基因，以製得一具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗。

構築於前述載體上之前述腫瘤相關基因與細胞激素基因之表現可由一個或一個以上可於哺乳動物表現之啟動子



### 五、發明說明 (3)

啟動或由IRES (internal ribosome entry site) 調控

本發明之另一目的係提供一種合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，至少包含下列步驟：設計含適當限制酶切位點 (restriction site) 之引子 (primer) 序列；利用聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 技術分別放大並獨立出前述腫瘤相關基因與前述細胞激素基因；及利用結合酶 (ligase) 分別將前述腫瘤相關基因與細胞激素基因共同構築至一含適當啟動子或轉譯調控序列之載體上。

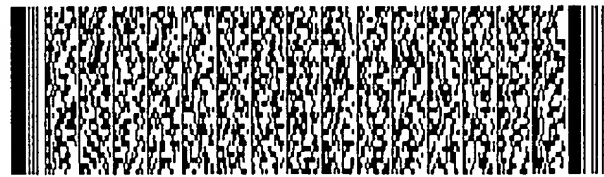
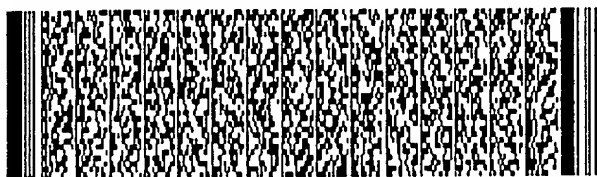
前述腫瘤相關基因與細胞激素基因位於前述載體上之位置順序可為腫瘤相關基因在細胞激素基因之前或之後。

前述共同構築之方式至少可以包括：將前述腫瘤相關基因與前述細胞激素基因結合成一融合基因 (fusion gene) 由同一啟動子啟動；或為兩個獨立基因分別由兩個獨立啟動子啟動；或為兩個獨立基因形式分別由一個啟動子啟動及一段IRES調控。

前述DNA疫苗之攜帶形式至少可以透過反轉錄病毒載體 (retroviral vector)、腺病毒載體 (adenoviral vector)、腺衛星病毒載體 (adeno-associated viral vector)、微脂粒 (liposome) 或直接以DNA形式施用。前述施用DNA疫苗之方式至少包括：皮下注射、肌肉注射、口服、噴霧或基因槍注射。

#### 【發明詳細說明】

本發明係關於一DNA疫苗及其合成方法，其係利用DNA



#### 五、發明說明 (4)

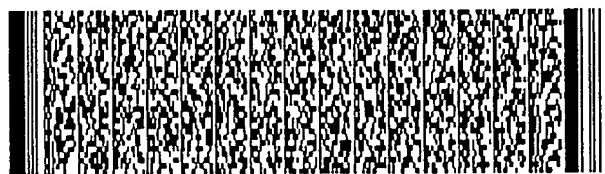
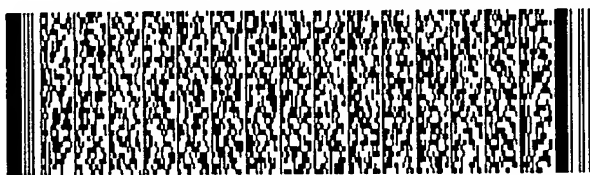
重組技術將一段腫瘤相關基因與一段細胞激素基因共同構築於一載體上，將前述DNA疫苗以一有效劑量施用於哺乳動物，藉由於其體內共同表現腫瘤相關抗原與細胞激素以達到增強免疫反應及抑制或減緩腫瘤細胞生長之療效。

本發明之主要目的係提供一種DNA疫苗，其係於一含適當啟動子或轉譯調控序列之載體上構築至少包括：一段腫瘤相關基因；及一段細胞激素基因，以製得一具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗。

構築於前述載體上之腫瘤相關基因與細胞激素基因之表現至少可由一個或一個以上可於哺乳動物細胞表現之啟動子，例如：CMV、PSV或LTR啟動或由IRES調控。前述腫瘤相關基因可以為致癌基因，例如：neu、met或ras，並且可以為一段完整或截取(truncated)之基因形式，例如：一段編碼neu蛋白細胞外區域之N'-neu基因。前述細胞激素基因至少可以包括：介白素-2、介白素-4或GM-CSF之基因。

本發明之另一目的係提供一種合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，至少包含下列步驟：設計含適當限制酶切位點之引子序列；利用聚合酶連鎖反應技術分別放大並獨立出前述腫瘤相關基因與前述細胞激素基因；及利用結合酶分別將前述腫瘤相關基因與細胞激素基因共同構築至一含適當啟動子或轉譯調控序列之載體上。

前述共同構築之位置順序可為腫瘤相關基因在細胞激





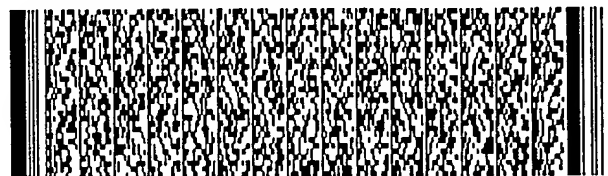
## 五、發明說明 (5)

素基因之前或之後；且前述共同構築其方式至少可以包括：將前述腫瘤相關基因與前述細胞激素基因結合成一融合基因由同一啟動子啟動，例如：將N'-neu基因與介白素-2基因融合接於一個CMV啟動子之後；或為兩個獨立基因分別由兩個獨立啟動子啟動，例如：將N'-neu基因與介白素-2基因分別接於兩個獨立之啟動子之後；或為兩個獨立基因形式分別由一個啟動子及一段IRES調控，例如：將N'-neu基因接於CMV啟動子之後而介白素-2基因接於一段IRES之後。

前述DNA疫苗之攜帶形式至少可以透過反轉錄病毒載體、腺病毒載體、腺衛星病毒載體、微脂粒或直接以DNA形式施用。前述病毒載體之優點為轉殖效率較高，表現力較佳，但不同病毒載體之使用有其限制性，例如：反轉錄病毒載體只能感染分裂中之細胞，腺病毒載體易引起強烈之免疫反應，而腺衛星病毒載體則基因容量有限；前述非病毒載體，例如：微脂粒，雖然安全性高，然而其轉殖效率及表現力均不如病毒載體，而本發明之DNA疫苗係可依實際狀況選擇適當之載體。前述以DNA形式直接注射於肌肉細胞乃是利用肌肉細胞會自動吞入DNA並加以表現之特性，雖然一般而言，它的表現量並不會很高，但卻足以引發很好的免疫反應。

前述施用DNA疫苗之方式至少包括：皮下注射、肌肉注射、口服、噴霧或基因槍注射。

本發明之核酸疫苗，係可透過下列實施例進一步了解



## 五、發明說明 (6)

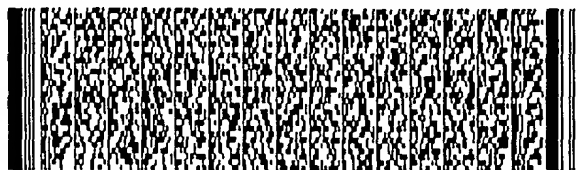
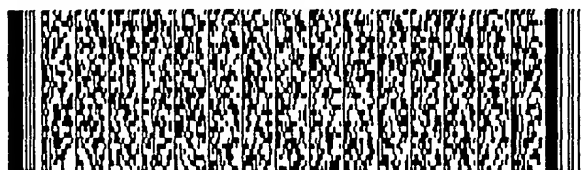
其構築方式及其實施功效。

實施例一：構築一融合N'-neu基因與介白素之-2之成熟片段之DNA疫苗

利用DNA重組技術構築一包含編碼neu蛋白之細胞外區域之N'-neu基因與介白素之-2之成熟片段之DNA疫苗。請參見圖一，係顯示本發明使用於構築融合N'-neu基因與介白素之-2之成熟片段之DNA疫苗之較佳之引子序列，設計含適當限制酶切位點之引子並藉由聚合酶連鎖反應夾出所欲之N'-neu基因與介白素之-2之成熟片段，利用適當之限制酶消化後再加入結合酶先將N'-neu基因構築至一可於哺乳動物細胞內表現基因的載體pRC/CMV之上，之後再次利用限制酶與結合酶在N'-neu基因之下游插入介白素之-2之成熟片段而形成融合N'-neu-介白素-2之DNA質體，如圖二所示，將前述之DNA質體送入Escherichia coli DH5  $\alpha$  中大量複製後以Endofree Qiagen plasmid-Mega kits抽取DNA質體，如此即完成融合N'-neu基因與介白素之-2成熟片段之DNA疫苗之製備。

實施例二：融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗抑制腫瘤生長之療效

於小鼠背上注射 $1 \times 10^6$ /ml小鼠膀胱癌細胞(MBT-2 cell)促使腫瘤塊之形成，10天後於腫瘤塊處以肌肉注射方式第一次施打前述之融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗或施打生理食鹽水作為對照，第一次施打DNA疫苗或生理食鹽水後，分別再於第7天及第14天進行第二次及第三次之



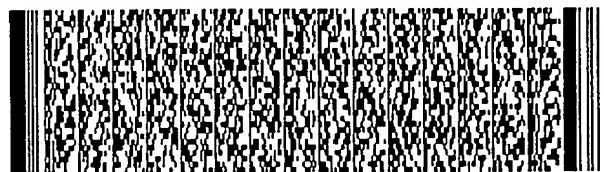
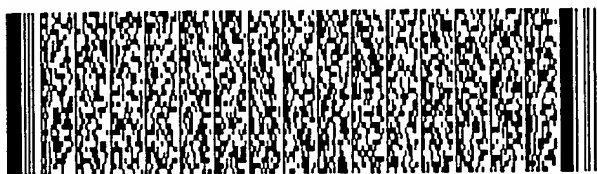
## 五、發明說明 (7)

施打 (流程見圖三)，於第一次施打與其後之每星期紀2-3次腫瘤塊之大小所得結果如圖四所示，發現與施打生理食鹽水相比較，施打N'-neu-介白素-2之DNA疫苗的確明顯具有抑制腫瘤生長之療效。

實施例三：融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗對於小鼠存活率之影響

於小鼠背上注射 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 小鼠膀胱癌細胞 (MBT-2 cell) 促使腫瘤塊之形成，10天後於注射處生長出約莫 $25\text{mm}^3$ 大小之腫瘤塊，以肌肉注射方式第一次施打前述之融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗至腫瘤塊上，另外於其他小鼠之腫瘤塊處施打生理食鹽水或施打僅含N'-neu但不含介白素-2之DNA疫苗作為對照組別，第一次施打DNA疫苗後分別再於第7天及第14天進行第二次及第三次之DNA疫苗施打 (流程見圖三)。請參見圖五a、b、d之數據，實驗結果發現，施打生理食鹽水的小鼠 (32隻)，在注射MBT-2膀胱癌細胞後54天即全部死亡 (如圖五a所示)，而施打N'-neu DNA疫苗之小鼠 (32隻) 仍有11隻存活 (存活率為32%) (如圖五b所示)，至於施打融合N'-neu-介白素-2 DNA疫苗之小鼠 (22隻) 仍有12隻存活 (存活率為54%)

(如圖五d所示)；且若將觀察時間再延長3個星期 (即注射MBT-2膀胱癌細胞後90天) 觀察到施打N'-neu DNA疫苗之小鼠32隻中僅2隻存活 (存活率為6%) (如圖五b所示)，而施打融合N'-neu-介白素-2 DNA疫苗之小鼠仍有6隻存活 (存活率為27%) (如圖五d所示)，此結果顯示融



#### 五、發明說明 (8)

合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗確實比N'-neu之DNA疫苗，能有效的延緩腫瘤的生長，而且長時間來看也能更有效的延長小鼠的存活率。

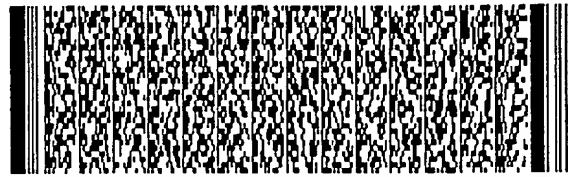
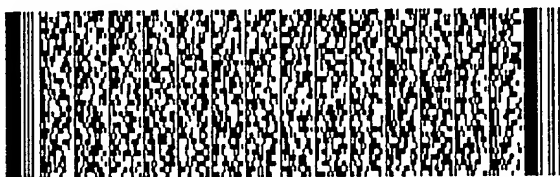
實施例四：比較施打融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗與合併施打N'-neu與介白素-2之個別DNA疫苗對於小鼠存活率之影響

為更加證明本發明之進步性，以下實施例為比較施打融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗與合併施打N'-neu與介白素-2之個別DNA疫苗抑制腫瘤之療效。注射腫瘤方式與DNA疫苗施打時間如圖三所示，結果請參見圖五c及d之數據，實驗證明在注射MBT-2膀胱癌細胞90天後，施打N'-neu-介白素-2之DNA疫苗之小鼠22隻中仍有6隻存活（存活率為27%）（如圖五d所示），而合併施打N'-neu與介白素-2之個別DNA疫苗之小鼠16之中僅1隻存活（存活率為6%）（如圖五c所示），更進一步證實融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗的確有更顯著之療效。

雖然本發明之DNA疫苗已以較佳實施例揭露於上，然本發明之範圍並不僅限於上述較佳實施例，應以下述申請專利範圍所界定為準。因此任何熟知此項技藝者，在不脫離本發明之申請專利範圍與精神下，當可做適度潤飾與修改。

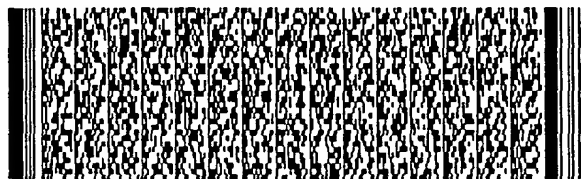
#### 【本發明之功效】

本發明之具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之優點包括（1）可以引發細胞免疫及體液免疫反應，



##### 五、發明說明 (9)

且免疫反應持久 (2) 其表現之抗原其結構更接近人體自然感染所表現之抗原結構，免疫效果佳 (3) 能交叉識別不同抗原部位，有利於克服逃避疫苗突變種 (vaccine escape mutant) (4) 可結合不同抗原之基因於質體中進行聯合免疫 (5) 多樣化的接種途徑，包括皮下、肌肉、口服、噴霧或基因槍注射等選擇方式 (6) 製備簡單、成本低廉、適合量產且運送、保存容易，係可改善習知用於治療腫瘤細胞之疫苗之缺點並有效增加其治療效果。



#### 圖式簡單說明

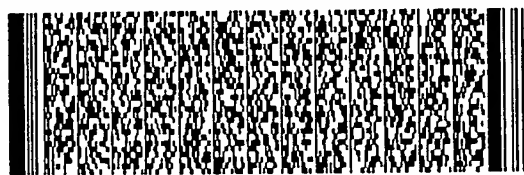
圖一係本發明實施例一所設計之引子序列。

圖二係本發明實施例一所構築融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗之示意圖。

圖三係本發明實施例二、三及四之實驗流程。

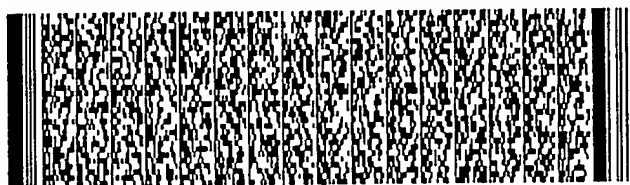
圖四係本發明實施例二融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗抑制腫瘤之療效。

圖五係本發明之實施例三及實施例四，比較分別施打生理食鹽水（圖五a）、N'-neu DNA疫苗（圖五b）、N'-neu與介白素-2之個別DNA疫苗或融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗（圖五c）或融合N'-neu-介白素-2之DNA疫苗（圖五d）所得之小鼠生存率結果圖。



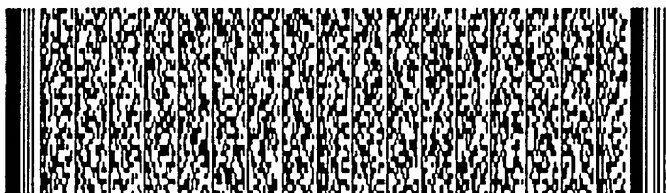
## 六、申請專利範圍

1. 一種DNA疫苗，其係於一含適當啟動子或轉譯調控序列之載體上構築至少包括：  
一段腫瘤相關基因；及  
一段細胞激素基因；  
以製得一具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗。
2. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之適當啟動子係可為一能夠於哺乳動物表現之啟動子。
3. 如申請專利第2項所述之DNA疫苗，其中前述之啟動子至少包括CMV、PSV或LTR。
4. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之轉譯調控序列係可為一段IRES。
5. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之腫瘤相關基因與細胞激素基因之表現可由一個或一個以上之啟動子啟動。
6. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之腫瘤相關基因係可為致癌基因。
7. 如申請專利第6項所述之DNA疫苗，其中前述之致癌基因至少包括neu、met或ras 致癌基因。
8. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之腫瘤相關基因係可為一段完整或截取之腫瘤相關基因。
9. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之腫瘤相關基因較佳係為一段編碼neu蛋白細胞外區域之截取之N'-neu基因。



## 六、申請專利範圍

10. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之細胞激素基因至少可以包括介白素-2、介白素-4或GM-CSF之基
11. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之細胞激素基因較佳係為介白素-2之成熟基因片段。
12. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其所含之基因順序可為腫瘤相關基因在細胞激素基因之前或之後。
13. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之腫瘤相關基因與細胞激素基因之構築形式係可為一融合基因形式由同一啟動子啟動。
14. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之腫瘤相關基因與細胞激素基因之構築形式係可為兩個獨立基因形式分別由兩個獨立啟動子啟動。
15. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其中前述之腫瘤相關基因與細胞激素基因之構築形式係可為兩個獨立基因形式分別由一前述啟動子及一段前述IRES調控。
16. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其較佳係為由一CMV啟動子啟動之N'-neu-介白素-2融合基因之DNA疫苗。
17. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其攜帶形式至少可以透過反轉錄病毒載體、腺病毒載體、腺衛星病毒載、微脂粒或直接以DNA形式施用。
18. 如申請專利第1項所述之DNA疫苗，其施用DNA疫苗之方式至少包括皮下注射、肌肉注射、口服、噴霧或基因槍注射。
19. 一種合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗





## 六、申請專利範圍

之方法，至少包含下列步驟：

設計含適當限制酶切位點之引子序列；

利用聚合酶連鎖反應技術分別放大並獨立出前述腫瘤相關基因與前述細胞激素基因；及

利用適當之限制酶與結合酶分別將前述腫瘤相關基因與細胞激素基因共同構築至一含適當啟動子或轉譯調控序列之載體上。

20. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之啟動子可以為一能夠於哺乳動物表現之啟動子。
21. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之啟動子至少包括CMV、PSV或LTR。
22. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之轉譯調控序列可為一段IRES。
23. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之腫瘤相關基因與細胞激素基因之表現可由一個或一個以上之前述啟動子啟動。
24. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之腫瘤相關基因可以為致癌基因。
25. 如申請專利第24項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞



#### 六、申請專利範圍

胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之致癌基因至少包括neu、met或ras 致癌基因。

26. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之腫瘤相關基因可以為一段完整或截取之腫瘤相關基因。

27. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之腫瘤相關基因較佳係為一段編碼neu蛋白細胞外區域之截取之N'-neu基因。

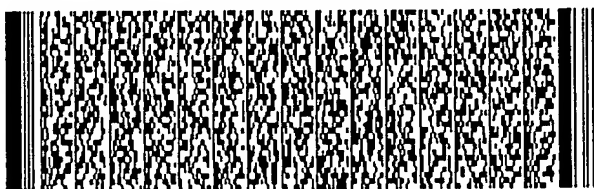
28. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之細胞激素基因至少可以包括介白素-2、介白素-4或GM-CSF之基因。

29. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之細胞激素基因較佳係為介白素-2之成熟基因片段

30. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之DNA疫苗所含之基因順序可為腫瘤相關基因在細胞激素基因之前或之後。

31. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之腫瘤相關基因與細胞激素基因之共同構築形式可以為一融合基因形式由同一前述啟動子啟動。

32. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞



#### 六、申請專利範圍

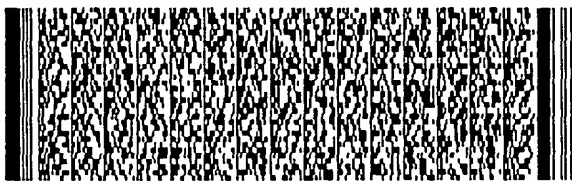
胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之腫瘤相關基因與細胞激素基因之共同構築形式可以為兩個獨立基因形式分別由兩個獨立前述啟動子啟動。

33. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之腫瘤相關基因與細胞激素基因之共同構築形式可以為兩個獨立基因形式分別由一前述啟動子及一段前述IRES調控。

34. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述DNA疫苗較佳係為由一CMV啟動子啟動之N'-neu-介白素-2之融合基因之DNA疫苗。

35. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述DNA疫苗之攜帶形式至少可以透過反轉錄病毒載體、腺病毒載體、腺衛星病毒載體、微脂粒或直接以DNA形式施用。

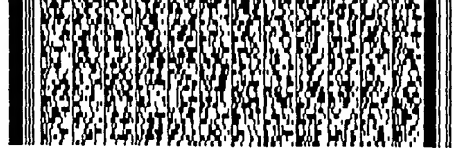
36. 如申請專利第19項所述之合成具有腫瘤相關基因與細胞激素基因之DNA疫苗之方法，其中前述之DNA疫苗施用方式至少包括皮下注射、肌肉注射、口服、噴霧或基因槍注射。



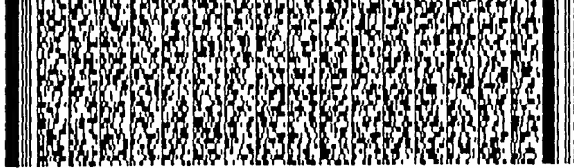
第 1/18 頁



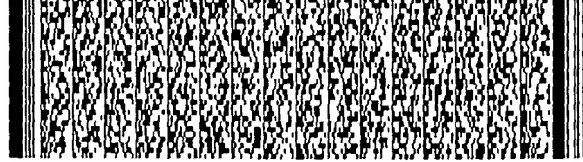
第 2/18 頁



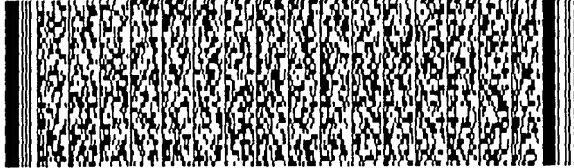
第 4/18 頁



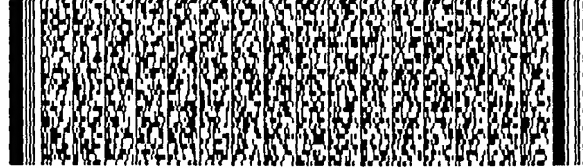
第 4/18 頁



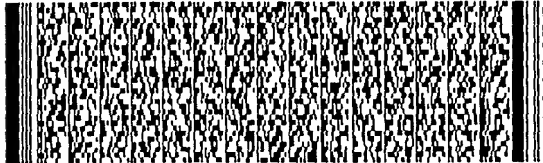
第 5/18 頁



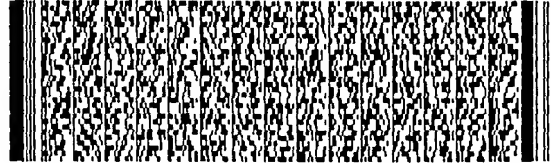
第 5/18 頁



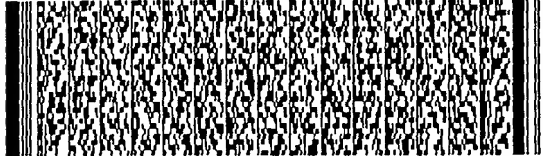
第 6/18 頁



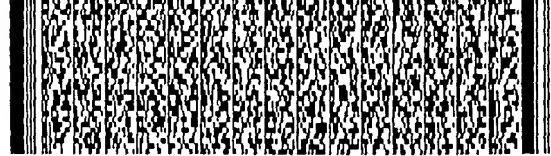
第 6/18 頁



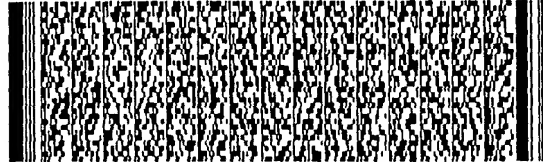
第 7/18 頁



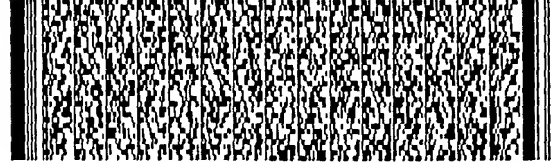
第 7/18 頁



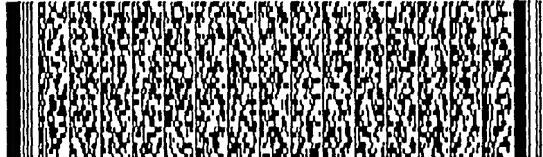
第 8/18 頁



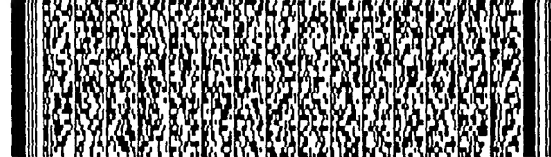
第 8/18 頁



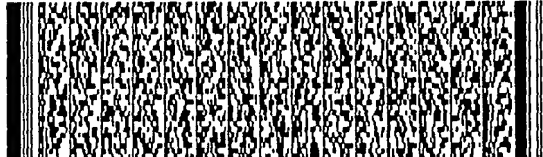
第 9/18 頁



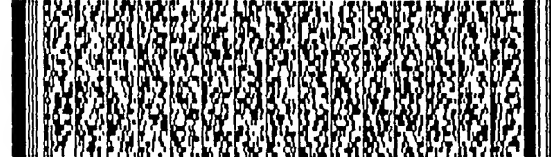
第 9/18 頁



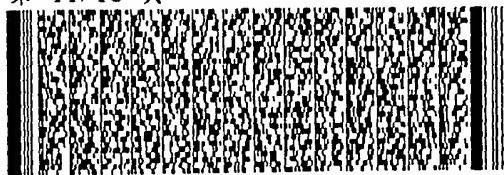
第 10/18 頁



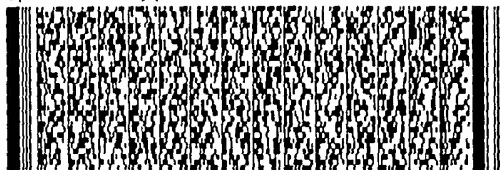
第 10/18 頁



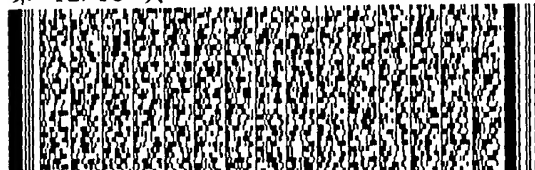
第 11/18 頁



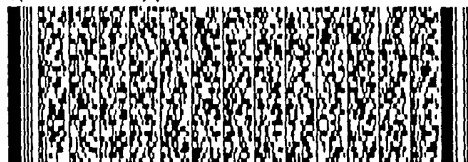
第 11/18 頁



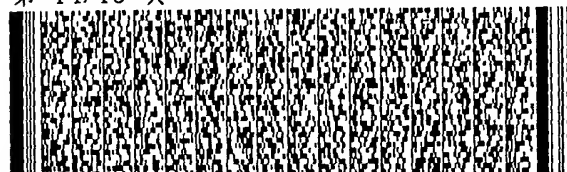
第 12/18 頁



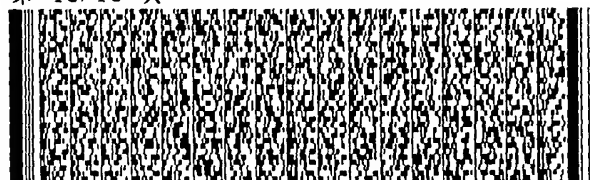
第 13/18 頁



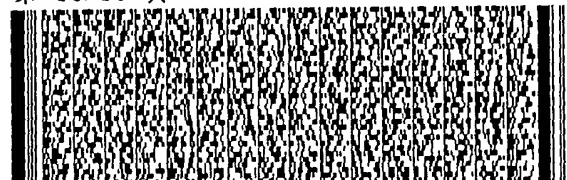
第 14/18 頁



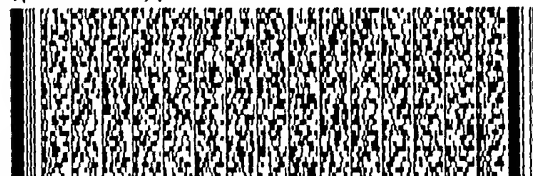
第 15/18 頁



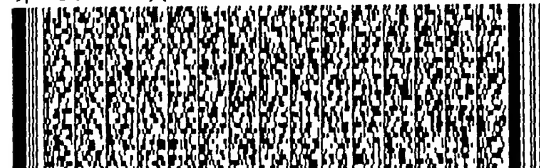
第 16/18 頁



第 17/18 頁



第 18/18 頁

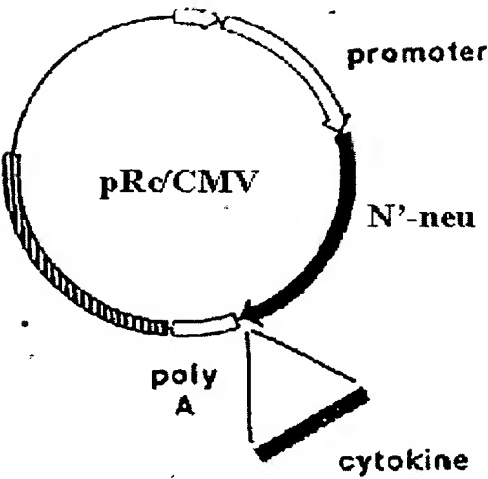


[illegible]

用於構築融合 N'-neu-介白素-2 之 DNA 疫苗之引子序列

Primer	Sequence
<i>Hind</i> III- N'-neu(F)	5' GCAATCGC <u>GA</u> <u>GCTT</u> CCGCAATGATCATCATGGAGCT 3'
N'-neu- <i>Not</i> I(R)	5' GCAATCAG <u>CGGCCG</u> CGCTCTGCTGGGCAGCCTCGTT 3'
<i>Not</i> I-IL2(F)	5' GCAATCAG <u>CGGCCG</u> CCAGCGCACCCACTTCAAGCTC 3'
IL2- <i>xba</i> I(R)	5' GCAATCGCT <u>CTAG</u> GGAGGTACATAGTTATTGAGGG 3'

圖 一



含有 N'-neu-介白素-2 融合基因之質體示意圖

圖 二

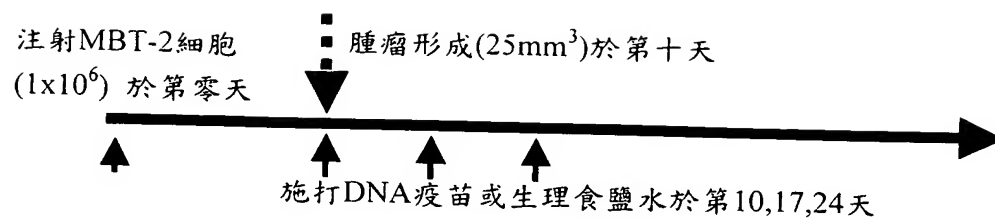


圖 三

融合 N'-neu-介白素-2 之 DNA 疫苗抑制腫瘤生長之療效

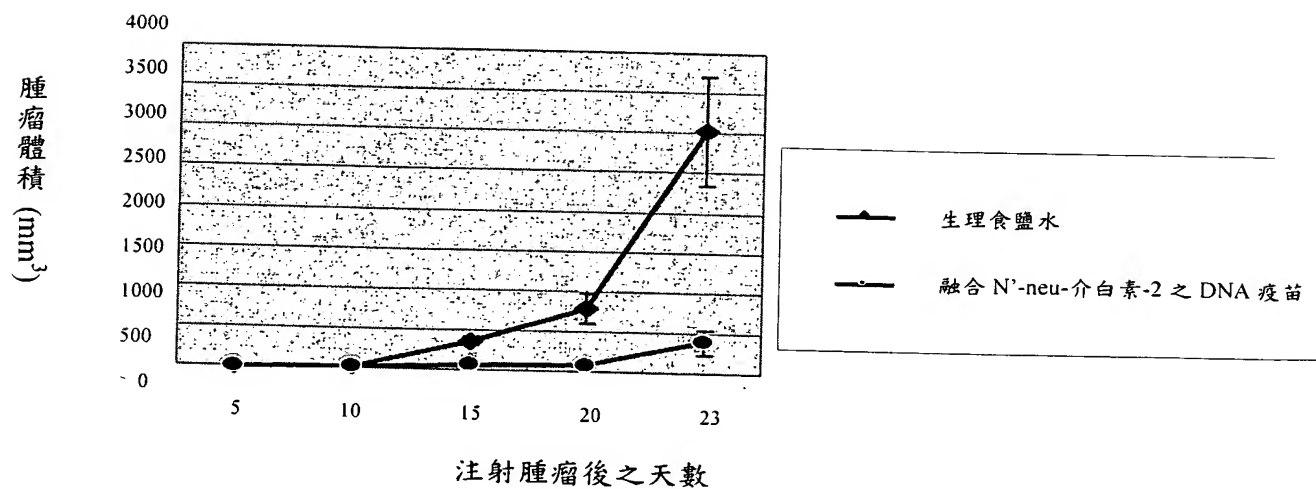
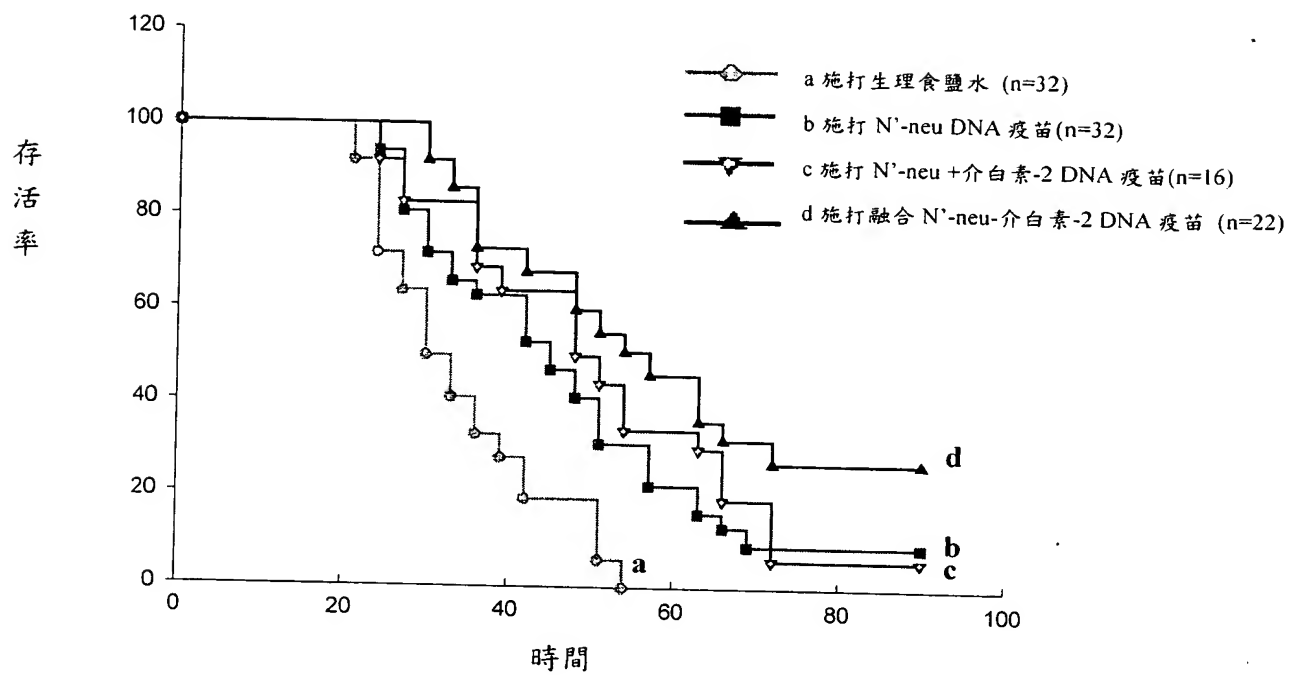


圖 四



小鼠存活率之 Kaplan-Meier 分析圖



圖五